

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
CAMPUS BAIXADA SANTISTA

DANIELE CORREIA DE SALES

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBICO
SOBRE OS NÍVEIS DE ESPÉCIES REATIVAS DE
OXIGÊNIO NA AORTA DE RATAS
OVARIECTOMIZADAS**

Santos
2013

DANIELE CORREIA DE SALES

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBICO SOBRE OS NÍVEIS DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO NA AORTA DE RATAS OVARIECTOMIZADAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de São Paulo como parte dos requisitos curriculares para obtenção do título de bacharel em Educação Física – Modalidade Saúde.

Orientadora: Prof^ª. Dr^a. Alessandra Medeiros

Co-orientadora: Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga

Santos

2013

DANIELE CORREIA DE SALES

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBICO SOBRE OS NÍVEIS DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO NA AORTA DE RATAS OVARIECTOMIZADAS

Este exemplar corresponde à redação final do Trabalho de Conclusão de Curso defendido por Daniele Correia de Sales e aprovado pela Banca Examinadora em 17/12/2013.

Prof^ª. Dr^ª. Alessandra Medeiros

Orientadora

Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga

Co-orientadora

Santos

2013

Banca examinadora



Mtdo. Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga
Co-orientadora



Prof^a. Dr^a. Camila Aparecida Machado de Oliveira



Prof. Dr. Ricardo José Gomes

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a toda minha família, em especial aos meus pais, Danilo e Sandra, e ao meu irmão Diego, que durante minha graduação estiveram sempre prontos a me ajudar, oferecendo total apoio financeiro, psicológico e emocional, e ao meu noivo Luan, que esteve sempre ao meu lado, me apoiando em todas as decisões importantes.

Dedico também a minhas companheiras de república Bárbara, Camila, Carla, Gabrielle, Juliana A., Juliana S., por fazerem parte da minha vida e deixarem meus dias em Santos mais divertidos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, que me sustentou durante minha caminhada até a conclusão do curso de Bacharelado em Educação Física.

Aos meus familiares, em especial aos meus pais, meu irmão, meus avós e meu noivo que me apoiaram durante essa graduação.

A minha Orientadora, Alessandra Medeiros, que me ofereceu a oportunidade de conhecer seu campo de pesquisa e atuação.

A minha Co-orientadora, Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga, que foi fundamental nessa pesquisa e na minha formação profissional.

Aos meus colegas de turma, que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

A todos os professores da UNIFESP, que colaboraram para que eu tivesse uma formação de excelência.

“Conhecemos o amor nisto: que Ele deu a sua vida por nós, e nós devemos dar a vida pelos irmãos.”

I João 3:16

SALES, D. C., **Efeito do Treinamento Físico Aeróbico Sobre os Níveis de Espécies Reativas de Oxigênio na Aorta de Ratas Ovariectomizadas**. 2013. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Educação Física) – Universidade Federal de São Paulo, Santos, 2013.

RESUMO

Sabe-se que a hipertensão arterial é uma doença multifatorial que atinge grande parte da população adulta, principalmente mulheres em idade mais avançada no período da pós-menopausa. Isso se deve a alterações relacionadas ao hipoestrogenismo. O hipoestrogenismo está relacionado com o surgimento do estresse oxidativo nos vasos sanguíneos e consequentemente promove o surgimento da disfunção endotelial, que por sua vez contribui para o desenvolvimento da hipertensão arterial. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do treinamento físico aeróbico sobre os níveis de espécies reativas de oxigênio na aorta de ratas ovariectomizadas. **Métodos:** Foram estudadas 40 ratas Wistar divididas em 4 grupos: controle sedentárias, controle treinadas, ovariectomizadas sedentárias e ovariectomizadas treinadas. Todas as ratas passaram pela cirurgia de ooforectomia bilateral, porém o grupo controle não teve seus ovários removidos. Após a cirurgia foram submetidas a um treinamento físico de intensidade moderada, uma hora por dia, cinco vezes por semana, durante oito semanas. Ao final desse período foram sacrificadas, a aorta foi retirada e congelada para análise das medidas de espécies reativas de oxigênio (EROs). **Resultados:** Ao final do período de experimento, pode-se observar que as ratas dos grupos ovariectomizados apresentaram maior quantidade de EROs (superóxido) na aorta, quando comparadas as ratas do grupo controle. No entanto, pode-se observar também que o treinamento físico aeróbico foi capaz de atenuar esse índice mesmo na condição de deficiência de estrogênio. **Conclusão:** O treinamento físico aeróbico foi capaz de atenuar o índice de EROs na aorta de ratas ovariectomizadas.

Palavras-chave: Espécies reativas de oxigênio, Menopausa, Disfunção endotelial.

ABSTRACT

It is known that hypertension is a multifactorial disease that affects a large part of the adult population, especially in older women in the postmenopausal period. This is due to changes related to hypoestrogenism. Hypoestrogenism is associated with the onset of oxidative stress in the blood vessels and thereby promotes the appearance of endothelial dysfunction, which in turn contributes to the development of hypertension. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of aerobic exercise training on the levels of reactive oxygen species in ovariectomized rats. **Methods:** sedentary control, trained control, sedentary ovariectomized and ovariectomized trained: 40 Wistar rats were divided into 4 groups studied. All rats had surgery for bilateral oophorectomy, but the control group did not have their ovaries removed. After surgery were subjected to physical training of moderate intensity, one hour a day, five times a week for eight weeks. After this period were sacrificed, the aorta was removed and frozen for analysis of measures of reactive oxygen species (ROS). **Results:** At the end of the experiment, it can be observed that the rats ovariectomized animals showed a higher amount of ROS (superoxide) in the aorta when compared to those of control rats. However, one can also observe that aerobic exercise training was able to reduce this rate even in the condition of estrogen deficiency. **Conclusion:** Aerobic exercise training was able to attenuate the rate of ROS in the aorta of ovariectomized rats.

Keywords: Reactive oxygen species, Menopause, endothelial dysfunction.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ang II – Angiotensina II
AT1 – Angiotensina I
CEP – Comitê de Ética e Pesquisa
CS – Ratas Controle Sedentárias
CT – Ratas Controle Treinadas
Cu/Zn SOD – Cálcio/Zinco SOD
DHE – Dihidroetídio
DNA – Deoxyribonucleic Acid
ECA – Enzima Conversora de Angiotensina
eNOS – Enzima Óxido Nítrico Sintase Endotelial
EROs – Espécies Reativas de Oxigênio
HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica
LDL – Low Density Lipoproteins
MnTMPyP – Mimético da Enzima Superóxido Dismutase
mRNA – Ribonucleic Acid
NAD(P)H – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato
NO – Óxido Nítrico
OMS – Organização Mundial de Saúde
OS – Ratas Ovariectomizadas Sedentárias
OT – Ratas Ovariectomizadas Treinadas
SOD – Enzima Superóxido Dismutase
UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E IMAGENS

Imagem 1 – Ooforectomia Bilateral	20
Ilustração 1 – Gráfico do teste de tolerância ao esforço físico	23
Ilustração 2 – Gráfico de Massa Corporal	24
Ilustração 3 – Tabela referente à massa corporal nos períodos pré e pós treinamento	24
Ilustração 4 – Gráfico de massa corporal no decorrer das semanas	25
Imagem 2 – Medidas de espécies reativas de oxigênio	26

SUMÁRIO

1. Introdução	12
1.1. Hipertensão arterial	12
1.2. Menopausa	13
1.3. O endotélio	14
1.4. Óxido nítrico	15
1.5. Espécies reativas de oxigênio	15
1.6. Disfunção endotelial	17
1.7. Exercício físico	17
2. Método	19
2.1. Amostra	19
2.2. Cuidados éticos com os procedimentos experimentais	19
2.3. Procedimento para ooforectomia bilateral	20
2.4. Protocolo de treinamento físico aeróbico	20
2.5. Avaliação da tolerância ao esforço físico progressivo	21
2.6. Pesagem	21
2.7. Remoção e preparação da aorta	21
2.8. Medidas de espécies reativas de oxigênio	22
2.9. Análise dos resultados	22
3. Resultados	23
4. Discussão	27
5. Conclusão	29
6. Referências bibliográficas	30
7. Anexos	34

1. INTRODUÇÃO

A deficiência de estrogênio oriunda do período da pós-menopausa contribui com o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). O aumento da EROs é uma das principais alterações desencadeadoras da disfunção endotelial, sendo a disfunção endotelial um dos principais fatores que contribui para o aumento da pressão arterial. Por esse motivo, mulheres com idade mais avançada possuem maior risco de desenvolver a hipertensão arterial (HAS).

1.1. Hipertensão arterial

A hipertensão arterial é considerada uma doença multifatorial, que se caracteriza por níveis elevados da pressão arterial (AMADO *et al.*, 2004). A elevação da pressão arterial representa um fator de risco independente, linear e contínuo para doença cardiovascular (V DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 2006).

Em termos gerais a função do sistema cardiovascular é distribuir o sangue aos diversos sistemas do nosso organismo. Isso se dá devido ao fluxo sanguíneo, que é impulsionado pela diferença de pressão entre as circulações venosa e arterial (GUYTON *et al.*, 2002). Para que um indivíduo seja considerado hipertenso, deve apresentar pressão arterial sistólica acima de 140mmHg e/ou pressão arterial diastólica acima de 90mmHg (V DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 2006).

A pressão arterial depende de mecanismos reguladores cardiocirculatórios, neuro-humorais e renais, que se interligam para a manutenção da pressão arterial normal. No entanto, esses mecanismos sofrem algumas alterações em decorrência do processo de envelhecimento. Essas alterações podem ocorrer de forma isolada e/ou associada uma a outra, podendo assim influenciar nos níveis pressóricos, como por exemplo, a ocorrência de uma elevação sustentada da pressão arterial (SGAMBATTI *et al.*, 2000).

A hipertensão arterial apresenta altos custos médicos e socioeconômicos e pode ser um fator significativo para desencadear outras doenças mediante suas complicações como, por exemplo, a doença arterial coronariana, a insuficiência cardíaca e a doença vascular periférica (V DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 2006).

A hipertensão é considerada uma das principais causas de morbidade e mortalidade, por isso é necessário que o diagnóstico seja realizado o mais precocemente possível para que se possa evitar ou diminuir os efeitos deletérios da doença (AMADO *et al.*, 2004).

No Brasil, entre os anos de 2000 e 2004, cerca de 600 mil pessoas foram hospitalizadas em consequência da hipertensão arterial. Segundo a VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial (2010), a hipertensão atinge em torno de 30% da população adulta, no entanto, sua prevalência é maior na população idosa acima de 65 anos, acometendo por volta de 60% dessa população, sendo que os indivíduos mais acometidos são mulheres.

Um dos possíveis fatores que pode contribuir para o desenvolvimento da hipertensão arterial em mulheres com mais idade é a associação do processo de envelhecimento com o período de menopausa devido à redução dos níveis de estrogênio, já que o mesmo está relacionado com a proteção do sistema cardiovascular e por este motivo, as mulheres estão mais susceptíveis ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, principalmente hipertensão arterial (CERVOLO *et al.*, 2007).

1.2. Menopausa

A menopausa trata-se do último ciclo menstrual, reconhecido após doze meses da sua ocorrência e ocorre em torno dos 50 anos de idade. É a fase da vida da mulher em que a capacidade de se reproduzir é cessada. A palavra climatério, do grego *Klimacter*, significa período crítico, “[...] é definido como uma fase biológica da vida da mulher que compreende a transição entre o período reprodutivo para o não reprodutivo” (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1996).

“[...] Os ovários deixam de funcionar e a produção de esteroides e peptídeo hormonal diminui e conseqüentemente se produzem no organismo diversas mudanças fisiológicas, algumas resultantes da cessão da função ovariana e de fenômenos menopáusicos a ela relacionados e outros devidos ao processo de envelhecimento. Quando se aproximam da menopausa, muitas mulheres experimentam certos sintomas, em geral passageiros e inócuos, porém não menos desagradáveis e às vezes incapacitantes” (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1996, p.1).

Existem alguns fatores que podem influenciar o período em que a mulher entrará na menopausa, como o tabagismo, baixo nível socioeconômico e baixo peso ponderal, sendo que esses fatores contribuem para o surgimento da menopausa precoce. Por outro lado, fatores que reduzem os ciclos ovulatórios durante o período reprodutivo, como a paridade, o uso de contraceptivos hormonais e ciclos anovulatórios podem adiar a idade em que ocorrerá a última menstruação (PEDRO *et al.*, 2003).

O período da menopausa também pode desencadear diversos sintomas, sejam psicológicos como a irritabilidade, ansiedade, depressão e as disfunções sexuais (FAVARATO *et al.*, 2001), ou físicos/antropométricos como a obesidade, que atinge cerca de 60% das mulheres no período perimenopausa. De fato, um estudo mostra que a prevalência do sobrepeso foi mais alta na faixa entre 35 e 49 anos em mulheres na menopausa, atingindo em torno de 23,4% (LINS *et al.*, 2000).

Alguns estudos tem demonstrado um efeito antioxidante do estrogênio, reduzindo a oxidação da LDL in vitro e aumentando a expressão de enzimas antioxidantes, o que nos mostra o importante papel do estrogênio sobre o sistema cardiovascular (MATURANA *et al.*, 2007).

O estrogênio exerce efeitos benéficos no sistema cardiovascular, como a modulação que compreende o tônus vascular, o aumento da vasodilatação, o aumento da síntese e biodisponibilidade de óxido nítrico (NO), o aumento da expressão da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), a produção de prostaglandinas e a redução da vasoconstrição (MATURANA *et al.*, 2007).

Outros estudos também tem demonstrado que a menopausa pode ter relação significativa com as doenças cardiovasculares. Há evidências de uma associação entre a deficiência de estrogênio e a maior produção de espécies reativas de oxigênio. O aumento da produção de espécies reativas de oxigênio associada à diminuição da produção e biodisponibilidade de óxido nítrico contribuem para o surgimento da disfunção endotelial, que por sua vez está relacionado com o desenvolvimento da hipertensão em mulheres na pós-menopausa (MATURANA *et al.*, 2007).

1.3. O endotélio

O endotélio vascular é uma camada de células que revestem os vasos sanguíneos, localizado entre o sangue circulante e a camada de músculo liso vascular. As células endoteliais formam a camada mais exposta no interior do vaso, apresentando uma permeabilidade seletiva e possui uma característica não trombogênica, com alta atividade metabólica e capacidade de produzir substâncias vasoativas (MATURANA *et al.*, 2007).

O endotélio possui uma função autócrina/parácrina que regula a secreção de substâncias que controlam o tônus e a estrutura vascular. Produz tanto fatores relaxantes como o NO e prostracilinas, quanto constritores como a endotelina e a angiotensina II. Sendo que o fator relaxante mais importante liberado pelo endotélio é NO. (ALCANTARA *et al.*, 2003).

1.4. Óxido nítrico

O óxido nítrico (NO) desempenha um importante papel em processos fisiológicos e patológicos vasculares. O NO é apontado como um dos possíveis reguladores da pressão arterial, devido ao seu efeito vasodilatador nos vasos sanguíneos (PALMER *et al.*, 1988).

Alguns estudos demonstram que existe um fator físico nos vasos sanguíneos que levam a ativação dos mecanorreceptores da parede do vaso que induzem a síntese de NO pelas células endoteliais a partir da eNOS e que o NO pode atuar localmente no músculo liso com uma meia vida de alguns segundos (BUSE *et al.*, 1994).

O estrogênio também promove várias alterações no vaso sanguíneo, e diante a sua deficiência, há uma redução na produção de NO, já que os baixos níveis de estrogênio estão relacionados com a redução da expressão da eNOS (CAMPOREZ *et al.*, 2008).

A diminuição dos níveis de NO juntamente com o aumento das espécies reativas de oxigênio no vaso, pode acarretar um processo de disfunção endotelial, que por sua vez pode levar ao desenvolvimento da hipertensão arterial (REMEZAL *et al.*, 1994).

1.5. Espécies reativas de oxigênio

As espécies reativas de oxigênio (EROs) também são conhecidas como radicais livres. O termo radical livre refere-se ao átomo ou molécula com alta reatividade, pois este contém um número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica, por isso não há um emparelhamento, ficando assim, um ou mais elétrons livres na zona orbital. As EROs são produzidas pela mitocôndria ou por fontes enzimáticas como a NAD(P)H oxidase, ciclooxigenase e xantinaoxigenase por exemplo (FERREIRA *et al.*, 1997).

Os radicais livres de oxigênio são produtos naturais dos processos do metabolismo oxidativo que ocorre em nosso organismo e possuem uma grande importância quando em concentrações mínimas. Entretanto, também podem danificar componentes moleculares essenciais como o DNA, proteínas, carboidratos e lipídios (SCHNEIDER *et al.*, 2004).

O ânion superóxido (O_2^-) e o radical hidroxila (OH) são alguns exemplos de radicais livres. Quando ocorre um desbalanço entre a produção e a remoção de EROs pelo sistema de defesa antioxidante, ocorre um processo denominado estresse oxidativo. O termo estresse oxidativo é

utilizado em circunstâncias que resultam em danos teciduais ou na produção de composto tóxicos que também causam danos aos tecidos (SCHNEIDER *et al.*, 2004).

Sabe-se que as EROs pode desempenhar papéis fisiológicos importantes no controle da sinalização celular, na apoptose e na fagocitose de agentes estranhos (VASCONCELOS *et al.*, 2007).

Um importante fator que interfere no aumento da produção das EROs é a deficiência de estrogênio, que desencadeia um estado de estresse oxidativo no vaso pelo aumento da atividade da angiotensina II. Contudo, altas concentrações de angiotensina II podem contribuir para o aumento da vasoconstrição, pois esta é responsável pela ativação da NAD(P)H oxidase, sendo esta a principal enzima responsável por produzir superóxido no vaso. O superóxido, por sua vez, é um potente vasoconstritor e contribui para o aumento da pressão arterial (GIMENEZ, *et al.*, 2006).

No endotélio, quando há aumento na produção do superóxido, ocorre a inibição de três importantes vasodilatadores, o NO, a prostraciclina e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio. Sendo assim, a redução da biodisponibilidade de NO no vaso, associado a uma maior produção de EROs, contribui para a redução da vasodilatação endotélio dependente, levando ao desenvolvimento da disfunção endotelial (FELETOU *et al.*, 2006).

Situações como o envelhecimento, menopausa e hipertensão arterial, também contribuem para o desenvolvimento da disfunção endotelial, nessas condições ocorre uma maior liberação de fatores constritores e espécies reativas de oxigênio (EROs) que irão influenciar na atividade relaxante do NO (ALCANTARA *et al.*, 2003).

As EROs desregulam a função endotelial causando degradação do NO. Contudo, a redução na síntese do NO ou sua inativação pelos radicais livres de oxigênio podem ser responsáveis pelo aumento da resistência vascular em hipertensos, contribuir para consequências clínicas como a hipertrofia vascular e cardíaca e desencadear uma disfunção endotelial (ALCANTARA *et al.*, 2003).

A produção das EROs é um processo enzimático estimulado por agonistas específicos e que pode ser associado a condições patológicas em níveis anormais. O radical superóxido é uma das principais EROs e reage muito rapidamente com o NO, inibindo sua bioatividade e gerando espécies reativas oxidantes secundárias, capazes de oxidar moléculas de LDL, causar disfunção endotelial e nitrificar resíduos tirosina de proteínas (BAHIA *et al.*, 2004).

1.6. Disfunção endotelial

A disfunção endotelial é definida como uma alteração funcional reversível das células endoteliais resultante de uma menor biodisponibilidade de NO e de uma maior ativação da EROs (ALCANTARA *et al.*, 2003). A disfunção está relacionada com a redução da vasodilatação endotélio dependente, ou seja, as células endoteliais apresentam uma menor capacidade de induzir a vasodilatação quando estimuladas (MATURANA *et al.*, 2007).

A disfunção endotelial pode ser decorrente da ação das EROs, tendo em vista que quando há uma produção excessiva de EROs ou uma diminuição das defesas antioxidantes, ocorre uma toxicidade celular pelo desequilíbrio na sinalização vascular ou pela alta reatividade contra os componentes químicos celulares, que levam ao dano do DNA e apoptose (BAHIA *et al.*, 2004).

1.7. Exercício físico

O estresse oxidativo desencadeado pelo exercício físico pode causar diferentes tipos de resposta dependendo do tecido avaliado. Quando se trata de um exercício físico crônico com intensidade moderada, há uma possível alteração na homeostase oxidativa das células e dos tecidos, pois ocorre uma diminuição dos níveis basais de danos oxidativos e um aumento na resistência ao estresse oxidativo. Por isso, o exercício em intensidade moderada torna-se benéfico à saúde (VANCINI *et al.*, 2005).

O exercício físico regular promove adaptações na capacidade antioxidante, o que protege as células contra os efeitos ruins do estresse oxidativo, prevenindo eventualmente alguns danos celulares. No músculo esquelético e cardíaco, o exercício crônico é capaz de aumentar a expressão de proteínas com função reparadora, prevenindo assim danos teciduais, pois é capaz de diminuir a extensão de apoptose (VANCINI *et al.*, 2005).

Além disso, o exercício físico desencadeia um processo de hipotensão pós-exercício, que é caracterizada pela diminuição da pressão arterial durante a recuperação. Alguns estudos mostram que isso pode se dar devido a uma diminuição da atividade simpática, redução do débito cardíaco, aumento do fluxo sanguíneo e redução da resistência vascular periférica. Também possui a capacidade de promover a redução da enzima NADP(H) oxidase que é responsável pela produção das EROs, e por esse motivo, o exercício físico tem sido utilizado na prevenção e tratamento da hipertensão arterial (BRUM *et al.*, 2004).

O índice de idosos no mundo vem crescendo cada vez mais, e a hipertensão arterial atinge cerca de 60% dessa população, sendo que as mulheres são as mais acometidas por essa doença. Por isso é necessário encontrarmos um meio de prevenção ou tratamento da hipertensão para que a qualidade de vida desses indivíduos melhore. Um caminho para que isso ocorra, é a prática regular de exercícios físicos, já que o mesmo promove diversos benefícios à saúde, entre eles a redução e controle da pressão arterial, o que poderá diminuir os gastos na saúde pública.

De fato, estudos mostram que o exercício físico vem sendo utilizado como tratamento não farmacológico de diversas doenças, entre elas a hipertensão arterial, por isso é necessário que profissionais da área de Educação Física estejam interessados sobre o assunto para que possam atender a essa demanda com mais conhecimento e qualidade. Contudo, quando pensamos em um contexto interdisciplinar, é importante que todos os profissionais adquiram tal conhecimento, a fim de proporcionar aos indivíduos um tratamento ou uma prevenção com mais qualidade e sempre levando em consideração as necessidades específicas.

Diante do exposto, este estudo foi desenvolvido paralelamente ao estudo da aluna Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga, matriculada no programa de mestrado interdisciplinar em ciências da saúde da Universidade Federal de São Paulo. A participação da autora do presente estudo se deu a partir do interesse na temática, já que projetos visando à prevenção e ou tratamento de doenças podem trazer várias contribuições para a sociedade.

Acredita-se que este estudo pode ter uma relevância significativa, pois contribui para forçar/reforçar os benefícios desencadeados pela prática de exercício físico, assim como permite compreender de maneira mais profunda as alterações desencadeadas pelo período da pós-menopausa, sendo essas informações de extrema importância para profissionais da saúde, com o objetivo de prevenir e tratar uma doença de acordo com a necessidade especial de cada indivíduo.

Desta forma, este estudo nos traz a seguinte problemática: Qual a influência do treinamento físico aeróbico sobre os índices de espécies reativas de oxigênio em ratas ovariectomizadas?

E a partir disso nos expõe o seguinte objetivo:

- Avaliar o efeito do treinamento físico aeróbico sobre os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs - Superóxido) na aorta de ratas ovariectomizadas.

Segundo Redondo (2010), a prática de exercício físico vem se destacando nos últimos anos como um meio eficaz de reverter o prejuízo na função endotelial. Assim, acreditamos que o treinamento físico aeróbico será capaz de reduzir o estresse oxidativo, por meio de uma menor produção de espécies reativas de oxigênio e por meio de um maior combate a essas espécies, mesmo na deficiência de estrogênio em ratas ovariectomizadas.

2. MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) sob o n.º 0116/12 e trata-se de uma pesquisa experimental, pois é o tipo de pesquisa que pode manipular suas variáveis na intenção de estabelecer uma relação de causa-efeito (THOMAS *et al.*, 2002).

2.1. Amostra

Foram estudadas 40 ratas fêmeas (Wistar) provenientes da colônia do CEDEME da Escola Paulista de Medicina/UNIFESP, com oito semanas de idade no início do experimento, que permaneceram em gaiolas com cinco animais, onde foram alimentadas com dieta laboratorial padrão e água “ad libitum”. A temperatura ambiente foi mantida entre 22-23°C e adotado ciclo claro/escuro de 12 horas, com início do período claro às sete horas e início do período escuro às 19 horas. As ratas foram distribuídas em quatro grupos: ratas controle sedentárias (CS), ratas controle treinadas (CT), ratas ovariectomizadas sedentárias (OS) e ratas ovariectomizadas treinadas (OT).

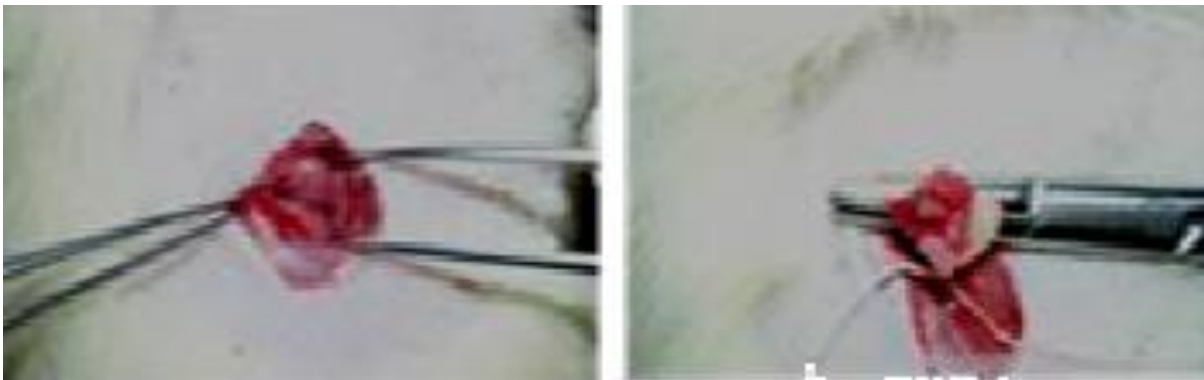
2.2. Cuidados éticos para com os procedimentos experimentais

Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos por pessoal treinado, estando de acordo com o Manual sobre Cuidados e Uso de Animais de Laboratório (GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, NIH PUBLICATION NO, 1996), estando de acordo com protocolos de uso e eutanásia de animais “princípios de cuidados com animais de laboratório” (COMMITTEE ON GUIDELINES FOR THE USE OF ANIMALS IN NEUROSCIENCE AND BEHAVIORAL RESEARCH, 2003).

2.3. Procedimento para ooforectomia bilateral.

As ratas foram anestesiadas (i.p.) com cloridrato de cetamina (50mg/Kg, Ketalar, Parke-Davis) e cloridrato de xilazina (12mg/Kg, Rompum, Bayer) e colocadas em decúbito dorsal para que se realize uma pequena incisão (um centímetro) em paralelo com a linha do corpo na pele e na musculatura no terço inferior na região abdominal. Os ovários foram localizados, e assim foi realizada a ligadura dos ovidutos, incluindo os vasos sanguíneos (Imagem 1). Os ovidutos foram seccionados e os ovários removidos. A musculatura e a pele foram suturadas e uma dose de antibiótico (i.m.) foi administrada (Benzetacil, 40 000 U/Kg) (LATOUR *et al.*, 2001; IRIGOYEN *et al.*, 2005). Os animais foram avaliados nove semanas após a ooforectomia em função de trabalhos prévios terem demonstrado que este tempo induz alterações que podem ser atenuadas pelo treinamento físico aeróbico dinâmico em ratas normais e diabéticas (IRIGOYEN *et al.*, 2005). Todos os animais passaram pelo mesmo processo cirúrgico, no entanto as ratas dos grupos controle sedentárias e treinadas, não tiveram seus ovários removidos, sendo assim considerados SHAM.

Imagem 1: Ooforectomia Bilateral



2.4. Protocolo de treinamento físico aeróbico

Uma semana após a cirurgia de ooforectomia, os grupos de ratas treinadas foram submetidos a um protocolo de treinamento físico em esteira rolante com velocidade e carga progressiva durante oito semanas (cinco dias por semana) e intensidade de 50 a 60% da velocidade máxima no teste de esforço inicial, com 60 minutos de duração (DE ANGELIS *et al.*, 1997; IRIGOYEN *et al.*, 2005). As ratas do grupo sedentário passaram por um período de adaptação à esteira, duas vezes por semana, durante 10 minutos.

2.5. Avaliação da tolerância ao esforço físico progressivo

Antes da realização do teste para avaliação da tolerância ao esforço físico progressivo, os animais foram submetidos a um período de adaptação ao exercício que consiste na prática da corrida durante dez minutos, utilizando velocidades variadas, por três dias alternados. Após essa etapa, os animais realizaram um teste progressivo até a exaustão utilizando protocolo com velocidade inicial de cinco metros por minuto, sendo intensificado a cada cinco minutos com velocidade de cinco metros por minuto, até chegar o instante em que o animal não consegue manter o padrão de corrida. Este teste foi realizado no início, meio e fim do período de treinamento físico.

2.6. Pesagem

A pesagem da massa corporal das ratas foi realizada em uma balança (Marca Gehaka), uma vez por semana no período da manhã, no dia em que os animais dos grupos treinados não foram submetidos ao treinamento físico, com o objetivo de verificar a influência da ovariectomia sobre a massa corporal.

2.7. Remoção e preparação da aorta

Após um período de 24 horas da última sessão de treino, ou sedentarismo, as ratas foram sacrificadas pelo método de decapitação. Com intuito de minimizar fatores de influência externos, foi sacrificada uma rata de cada grupo no mesmo dia do experimento.

A aorta torácica foi imediatamente retirada e dissecada em placa de petri contendo tampão Krebs-Henseleit (em mM: NaCl=115; KCl=4,7; MgSO₄=1,2; KH₂PO₄=1,5; NaHCO₃=25; CaCl₂=2,5; glicose=11,1 e pH=7,4) para a remoção dos tecidos conectivo e adiposo, em seguida a aorta foi cortada em segmentos contendo quatro milímetros de comprimento.

2.8. Medidas de espécies reativas de oxigênio – Dihidroetídio (DHE)

A geração de espécies reativas de oxigênio nas aortas foi determinada utilizando-se a dihidroetidina (DHE) (DAVEL, *et al.*, 2006). A DHE permeia pela célula livremente e na presença das espécies reativas de oxigênio, principalmente o ânion superóxido, é oxidada gerando produtos fluorescentes.

Para realização dessa técnica, as aortas foram isoladas, imersas em meio de congelamento (Tissue Freezing Medium, EUA) e congeladas imediatamente a -70°C . Utilizando um criostato (Leica, Alemanha) cortes transversais da aorta ($10\text{ }\mu\text{m}$) foram obtidos, colocados em lâminas de vidro (Star Frost, Alemanha), circulares com caneta hidrofóbica (Imm Edge, EUA) e incubados, por 10 minutos, com tampão fosfato $0,1\text{ M}$ contendo DTPA (100 mM), a 37°C . Na sequência, esses cortes foram incubados com novo tampão contendo DHE ($2\text{ }\mu\text{M}$) por 30 minutos, a 37°C em câmara úmida e protegidos da luz. Os cortes arteriais de controle negativo receberam o mesmo volume de tampão, mas na ausência de DHE. Para confirmar a presença do ânion superóxido no vaso, alguns cortes foram pré-incubados com o mimético da superóxido dismutase (SOD), o MnTMPyP ($25\text{ }\mu\text{M}$), por 30 minutos a 37°C .

As imagens foram capturadas em microscópio óptico (Eclipse 80i, Nikon, Japão) equipado com filtro para rodamina e câmara (DS-U3, Nikon, Japão), utilizando uma objetiva de 20x. A intensidade da fluorescência emitida pelos produtos da oxidação da DHE foi analisada utilizando o software Image J (National Institute of Health, Bethesda, MD, EUA).

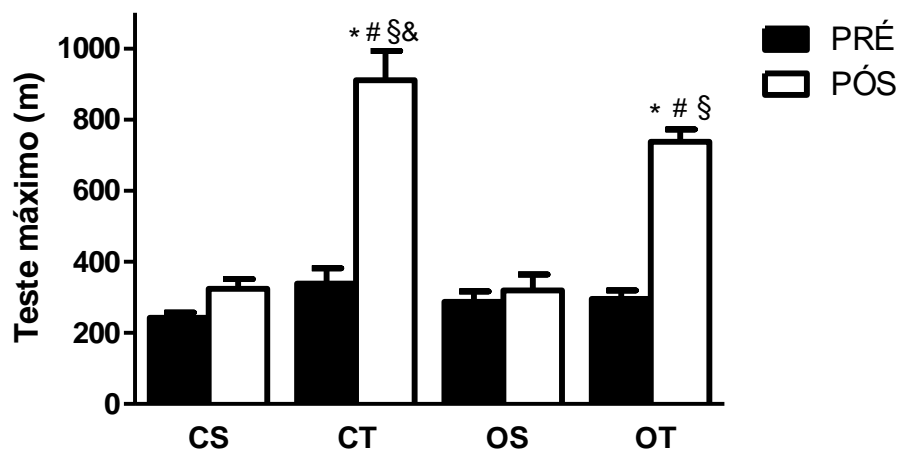
2.9. Análise dos resultados

Os dados obtidos nesse estudo foram apresentados como média \pm desvio padrão da média e comparados por meio da análise de variância (ANOVA) de duas vias, utilizando-se post-hoc de *Student Newman Keuls*. Para todas as análises foi adotado como nível de significância $p \leq 0,05$.

3 – RESULTADOS

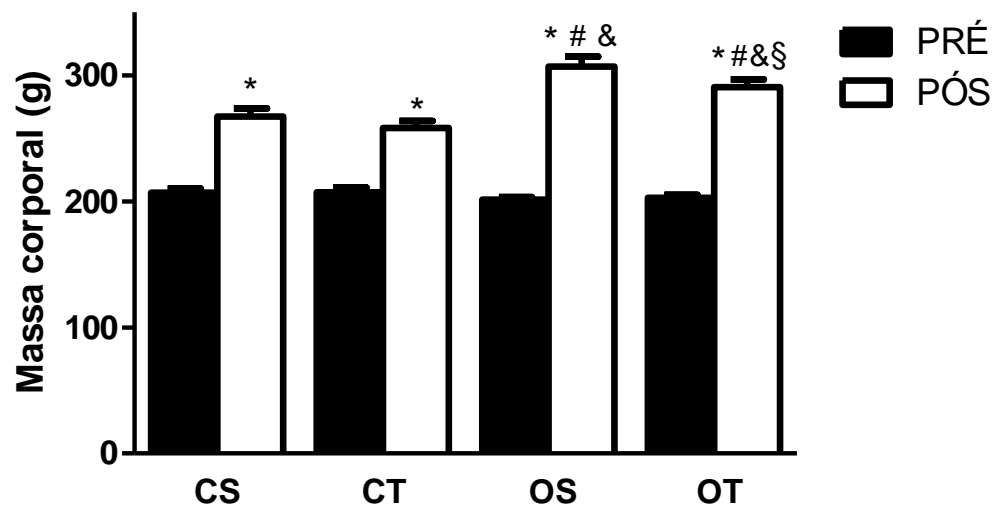
Os grupos treinados, tanto controle (CT) quanto ovariectomizado (OT), apresentaram aumento significativo da tolerância ao esforço físico após o período de treinamento físico quando comparados aos grupos sedentários. Quando comparamos os grupos controle treinado (CT) e ovariectomizado treinado (OT), podemos perceber que o primeiro obteve melhores resultados (Ilustração 1).

Ilustração 1: Gráfico do teste de tolerância ao esforço físico



Legenda: divisão dos diferentes grupos: controle (CS – n=10), controle treinada (CT – n=10), ovariectomizada (OS – n=10) e ovariectomizada treinada (OT – n=10), nos momentos pré (PRÉ) e pós-período experimental (PÓS). * diferença significativa versus o momento PRÉ do respectivo grupo; # diferença significativa versus CS PRÉ e PÓS; § diferença significativa versus OS PRÉ e PÓS; & diferença significativa versus OVX-TRE PÓS ($p \leq 0,05$). Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média; ANOVA para medidas repetidas com post hoc *de Student Newman-Keuls*.

Já em relação à massa corporal, observou-se que as ratas ovariectomizadas, apresentaram um aumento de massa corporal de maior magnitude quando comparadas as ratas do grupo controle (Ilustração2). No entanto, quando comparamos os grupos ovariectomizadas sedentárias e ovariectomizadas treinadas, podemos perceber que o aumento da massa corporal foi menor no grupo de ratas submetidas ao treinamento físico aeróbico (Ilustrações 2 e 3). Já no grupo controle, o treinamento físico não promoveu alteração.

Ilustração 2: Gráfico de Massa Corporal

Legenda: Massa corporal das ratas dos diferentes grupos: CS (n=10), CT (n=10), OS (n=10) e OT (n=10), nos momentos pré (PRÉ) e pós-período experimental (PÓS). * diferença significativa versus o momento PRÉ do respectivo grupo; # diferença significativa versus CS PRÉ e PÓS; & diferença significativa versus CT PRÉ e PÓS; § diferença significativa versus OS PRÉ e PÓS ($p \leq 0,05$). Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média; ANOVA para medidas repetidas com post hoc *de Student Newman-Keuls*.

Ilustração 3: Tabela referente à massa corporal nos períodos pré e pós treinamento de todos os grupos: CS (n=10), CT(n=10), OS (n=10) e OT (n=10).

Grupos				
Massa Corporal	CS	CT	OS	OT
Pré	207 \pm 3,4	207 \pm 3,8	201 \pm 2,2	203 \pm 2,2
Pós	267 \pm 6,4	258 \pm 5,5	307 \pm 7,9*	287 \pm 6,2*#

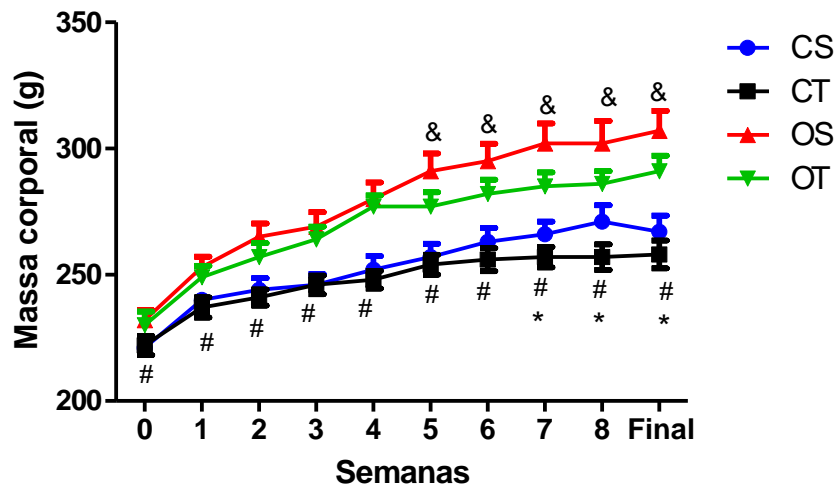
* diferença significativa vs os grupos controle (CS e CT);

diferença significativa vs o respectivo grupo sedentário (OS) ($p \leq 0,05$).

Quando se considera o aumento da massa corporal no decorrer das semanas, pode-se notar novamente que os grupos ovariectomizados apresentam durante todo o período experimental uma massa corporal significativamente maior quando comparado aos grupos controle (Ilustração 4). Além disso, no início do estudo, entre a semana 0 (semana de adaptação) e a semana 4, todos os grupos apresentaram um aumento de massa corporal. Porém, após a 5ª semana do experimento, os

grupos treinados (OT e CT) passaram a ganhar menos massa corporal semanalmente quando comparados aos respectivos grupos sedentários (OS e CS).

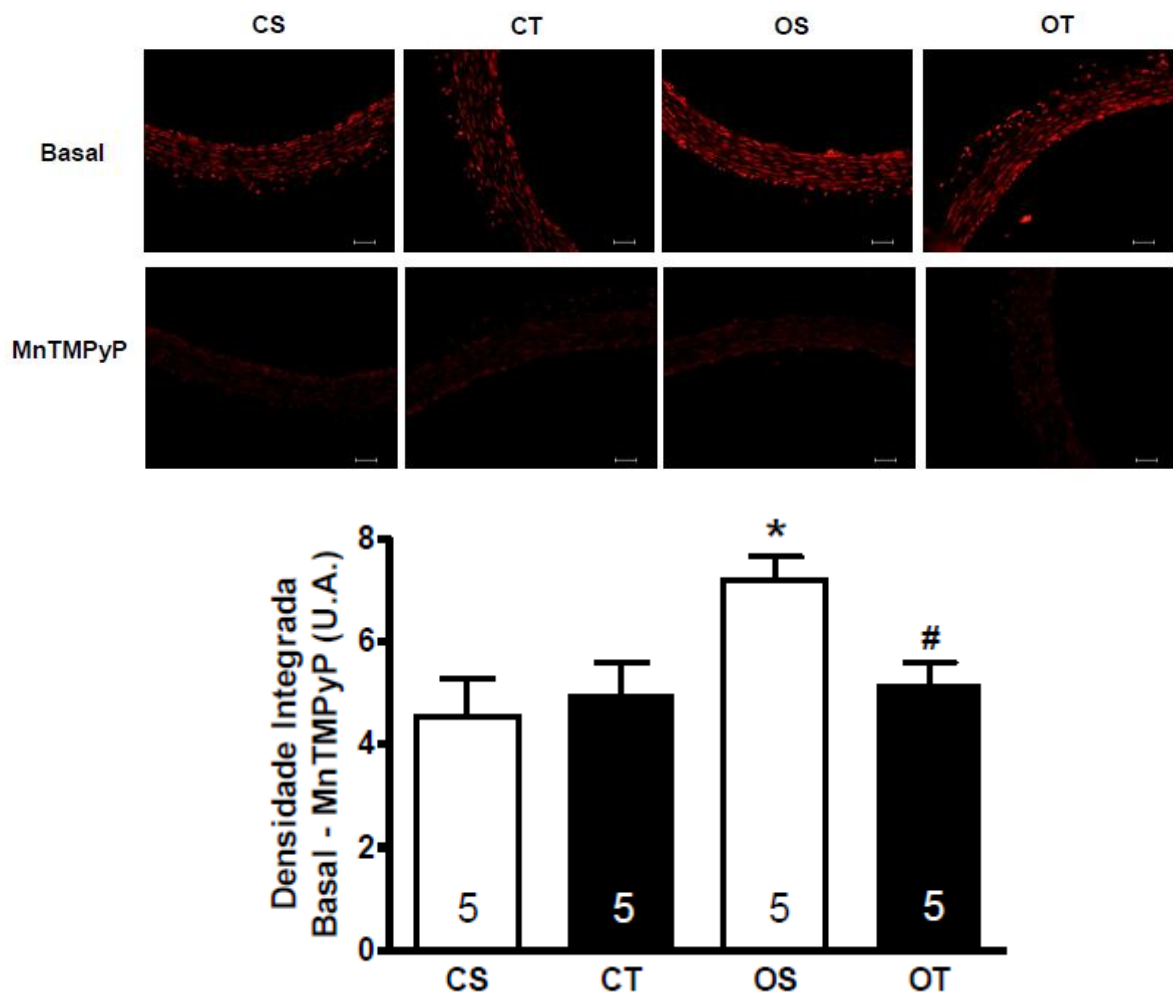
Ilustração 4: Gráfico de massa corporal no decorrer das semanas



Legenda: Evolução da massa corporal de todos os grupos: CS (n=10), CT (n=10), OS (n=10) e OT (n=10), durante todo o protocolo experimental. * diferença significativa CS versus CT; # diferença significativa entre os grupos controles (CS e CT) e ovariectomizados (OS e OT); & diferença significativa do grupo OS versus OT ($p \leq 0,05$). Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média; ANOVA para medidas repetidas com post hoc *de Student Newman-Keuls*.

A imagem 2 e ilustração 5 apresentam os resultados referentes a análise das medidas de espécies reativas de oxigênio. Pode-se observar que os grupos ovariectomizados apresentaram maior quantidade de espécies reativas de oxigênio (superóxido) no vaso, quando comparados aos grupos controle. Podemos também observar que o treinamento físico foi capaz de atenuar esse índice no grupo ovariectomizado.

Imagem 2: Medidas de espécies reativas de oxigênio



Legenda: Nível de espécies reativas de oxigênio nos diferentes grupos: controle (CS – n=5), controle treinada (CT – n=5), ovariectomizada (OS – n=5) e ovariectomizada treinada (OT – n=5). * Diferença significativa versus os grupos controles (CT e CS); # diferença significativa versus OS ($p \leq 0,05$).

4 – DISCUSSÃO

Tem sido demonstrado que o estrogênio está relacionado com a proteção do sistema cardiovascular, sendo assim o hipoestrogenismo, oriundo da pós-menopausa, contribui para o desenvolvimento de alterações no sistema cardiovascular (SANDOVAL, 2005).

A deficiência de estrogênio também tem sido associada às alterações antropométricas como aumento do índice de massa corporal e diminuição das capacidades físicas. De fato, estudos mostram que a menopausa está relacionada diretamente ao acúmulo de gordura na região abdominal e ganho de peso, devido às variações hormonais (ROCHA, *et al.*, 2013), Corroborando com os resultados expostos nos gráficos de massa corporal, onde observa-se um aumento significativamente maior desse índice nos grupos ovariectomizados, e no gráfico de tolerância ao esforço físico progressivo, no qual observamos um melhor desempenho do grupo controle treinado quando comparado ao grupo ovariectomizado treinado.

O presente estudo teve como objetivo principal avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbico sobre os níveis de espécies reativas de oxigênio na aorta de ratas ovariectomizadas. Estudos como o de Wassmann *et al.* (2001), demonstram que a ovariectomia promove o aumento nos níveis de EROs (superóxido). Corroborando com os achados na literatura o resultado do presente estudo demonstra que o grupo de ratas ovariectomizadas sedentárias apresentou maior nível de EROs, quando comparado aos grupos controle.

Alguns estudos (WASSMANN *et al.*, 2001; STICE *et al.*, 2009) mostram que o aumento dos níveis de EROs no vaso ocorre em parte pela maior ativação da Ang II. A deficiência de estrogênio promove o aumento da expressão de receptores de AT1 e o aumento da atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA), alterações que levam a uma maior ativação da Ang II. A Ang II no vaso promove a ativação da enzima NAD(P)H oxidase e consequentemente uma maior produção de EROs (GIMENEZ *et al.*, 2006). Segundo Camporez *et al.* (2011) a ovariectomia também é responsável por aumentar a expressão do RNAm e expressão proteica das subunidades da NAD(P)H oxidase no vaso, principalmente das subunidades gp21phox e 22phox.

Ainda no sentido de demonstrar as alterações vasculares ocasionadas pela ovariectomia, Camporez *et al.* (2011), observou em um de seus estudos que esse procedimento foi capaz de reduzir a expressão de enzimas antioxidantes como a da Cu/Zn-SOD na aorta de ratas. Sendo assim, essas alterações estão diretamente relacionadas com o aumento da produção das EROs (superóxido) na aorta de ratas ovariectomizadas. O aumento da produção e a redução da remoção de EROs na aorta contribui para o surgimento da disfunção endotelial, uma vez que, o superóxido é responsável

por reagir com o NO, dessa forma, reduzindo a biodisponibilidade de NO para o vaso sanguíneo (FALETOU *et al.*, 2006).

Por outro lado, confirmando a hipótese do presente estudo, o grupo de ratas ovariectomizadas treinadas apresentou uma redução dos níveis de ânion superóxido, quando comparado ao grupo sedentário. Segundo Adams *et al.* (2005) o treinamento físico aeróbico tem a capacidade de reverter ou atenuar o quadro de estresse oxidativo, pois reduz a expressão das subunidades da NAD(P)H oxidase, assim acarretando uma diminuição da geração das EROs nos vasos sanguíneos.

Outro benefício importante do treinamento físico aeróbico é sua capacidade de aumentar a expressão e ativação de enzimas antioxidantes como a SOD e a Catalase (IRIGOYEN *et al.*, 2005). A SOD é responsável por reduzir (dismutar) o superóxido em H₂O₂, o qual é convertido em água pela Catalase ou GPx. (BOO *et al.*, 2002).

Em seu estudo Adams *et al.* (2005), verificaram que após o período de quatro semanas de treinamento físico aeróbico, houve melhoras significantes na função endotelial em humanos com Doença Arterial Coronariana por dois principais motivos, o primeiro foi que o exercício físico diminuiu a expressão da enzima NAD(P)H oxidase e segundo foi que o exercício reduziu a expressão dos receptores AT1.

Sendo assim, o treinamento físico aeróbico regular vem se mostrando uma ferramenta importante para a melhora da disfunção endotelial, aumento da vasodilatação, aumento da produção e biodisponibilidade de NO e diminuição do estresse oxidativo, benefícios esses que contribuem para a prevenção do desenvolvimento da hipertensão arterial na deficiência de estrogênio.

5 – CONCLUSÃO

Pode-se concluir com os resultados do presente estudo que a deficiência de estrogênio contribui de forma significativa para o aumento da produção de EROs, principalmente o ânion superóxido, na aorta de ratas ovariectomizadas. Além disso, confirmando a hipótese do presente estudo, o treinamento físico aeróbico foi capaz de atenuar o níveis de EROs na aorta desses animais. A redução dos níveis de EROs no vaso sanguíneo é de extrema importância, já que previne a disfunção endotelial e consequentemente o surgimento da hipertensão arterial na deficiência de estrogênio.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, V. *et al.*, Impact of Regular Physical Activity on the NAD(P)H Oxidase and Angiotensin Receptor System in Patients With Coronary Artery Disease. **Circulation**, Boston, v.111, n.1, p.555-562, feb., 2005.

ALCANTARA, C.; RAMALBIMBO, V.; Endotélio e hipertensão arterial. **Medicina Interna**, Lisboa, v.10, n.4, p.217-220, out./dez., 2003.

AMADO, T. C. F.; ARRUDA, I. K. G. Hipertensão arterial no idoso e fatores de risco associados. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, Recife, v.19, n.2, p.94-99, jan., 2004.

BAHIA, L. *et al.* Endotélio e aterosclerose. **Revista da SOCERJ**, Rio de Janeiro, v.17, n.1, p.26-32, jan./mar., 2004.

BARREIRO, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.1, p.113-123, jan./fev., 2006.

BOO, Y.C. *et al.*, Shear stress stimulates phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase at Ser1179 by Akt-independent mechanisms: role of protein kinase. **The journal of Biological Chemistry**, Maryland, v.277, n.5, p. 3388-3396, oct., 2002.

BRUM, P.C. *et al.*, Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no cardiovascular. **Revista Paulista Educação Física**, São Paulo, v.18, n.1, p.21-31, jan./mar., 2004.

BUSE, R.; FISTHALER, B.; FLEMING, I. Mecanismos de cisalhamento dependente da liberação de NO. **The Scandinavian Physiological Society**, Bergen, v.23, n.1, p.261-275, jan., 1994.

CAMPOREZ, J.P. *et al.* Dehydroepiandrosterone protects against oxidative stress-induced endothelial dysfunction in ovariectomized rats. **The Journal of Physiology**, Salt Lake, v.10, n.1, p.2585-2596, may, 2011.

CARVALHO, R. T. *et al.* Exercício resistido na avaliação da disfunção endotelial na insuficiência cardíaca. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v.86, n.6, p.459-465, jun., 2006.

CERVOLO, G.S. *et al.* Efeito do estrogênio no sistema cardiovascular. **Revista de Hipertensão**, São Paulo, v.10, n.4, p.124-130, out./dez., 2007.

COMMITTEE ON GUIDELINES FOR THE USE OF ANIMALS IN NEUROSCIENCE AND BEHAVIORAL RESEARCH. **Neuroscience and Behavioral Research**, 2003.

CRUZAT, V. F. *et al.* Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v.13, n.5, p.336-342, set./out., 2007.

DAVEL, *et al.* Changes in vascular reactivity following administration of isoproterenol for 1 week: a role for endothelial modulation. **British Journal of Pharmacology**, v. 148, v.1, p. 629-639, jan, 2006.

DE ANGELIS, K.L. *et al.* Exercise training in aging: hemodynamic, metabolic, and oxidative stress evaluations. **Hypertension**, New York, v.30, n.1, p.767-771, july., 1997.

FAVARATO, M. E. C. S.; ALDRIGHI, J. M. A mulher coronariopata no climatério após a menopausa: implicações na qualidade de vida. **Revista da Associação Medica Brasileira**, São Paulo, v. 47, n.4, p.339-345, dez., 2001.

FALETOU, M.; VANHOUTTE, P.M. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder (The Wiggers Award Lecture). **Heart and Circulatory Physiology**, Chicago, v.291, n.1, p.985-1002, july., 2006.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Medica Brasileira**, São Paulo, v.43, n.1, p.61-68, jan., 1997.

GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS. **National Research Council**, p. 85-23, 1996.

GIMENEZ, J. *et al.*, Effects of oestrogen treatment and angiotensin-converting enzyme inhibition on the microvasculature of ovariectomized spontaneously hypertensive rats. **Physiol**, Salt Lake, v.91, n.1, p.261-8, jan., 2006.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado De Fisiologia Médica**. 10 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2002.

IRIGOYEN, M.C. *et al.*, Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. **Hypertension**, New York, v.46, n.2, p.1-6, may, 2005.

LATIUR, M.G., M.; SHINODA, S.; LAVOIE, J.M. Metabolic effects of physical training in ovariectomized and hyperestrogenic rats. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.90, n.1, p.235-241, jan., 2001.

LINS, A. P. M.; SICHIERI, R. Influência de Menopausa no Índice de Massa Corporal. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia e Metabologia**, Rio de Janeiro, v.45, n.3, p.265-270, jun., 2001.

MATURANA, M. A.; IRIGOYEN, M. C.; SPRITZER, P. M. Menopause, estrogens, and endothelial dysfunction: current concepts. **Clinics**, São Paulo, v.62, n.1, p.77-86, fev., 2007.

OLIVEIRA, S. M. J. V. *et al.* Hipertensão arterial referida em mulheres idosas: prevalência e fatores associados. **Texto Contexto Enfermagem**, Florianópolis, v.17, n.2, p.241-249, abr./jun., 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Investigaciones sobre la menopausia em los años noventa. **Série de Informes Técnicos N°866**, Ginebra, 1996.

PALMER, R. M.; ASHTON, D. S.; MONCADA, S. Células endoteliais vasculares: Sintetizar o óxido nítrico a partir de L-arginina. **Nature**, Baltimore, v.6, n.1, p.664-666, jan., 1988.

PEDRO, A. O. *et al.* Idade de ocorrência da menopausa natural em mulheres brasileiras: resultados de um inquérito populacional domiciliar. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.19, n.1, p.17-25, jan./fev., 2003.

PRADA, F. J. A. *et al.* Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, Brasília, v.12, n.2, p.29-34, jun., 2004.

REDONDO, F. R. R. Efeitos do treinamento físico aeróbico sobre as alterações vasculares estruturais, mecânicas e funcionais de ratos espontaneamente hipertensos: mecanismos implicados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.37, n.1, p.159, 2001.

REMEZAL, M. Etiopatogenia endotelial da hipertensão. **Revista Sístole**, Montevideo, v.24, n.5, p.152, set./out., 1994.

ROCHA, N. G. S. *et al.* Perfil Antropométrico e Qualidade de Vida em Mulheres Climatéricas Atendidas nos ESF's de Montes Claros-MG. **Fórum de Ensino, Pesquisa, Extensão e Gestão. Universidade Cenários e Desafios**, Montes Claros, set., 2013.

SANDOVAL, P. E.A., **Medicina do Esporte Princípios e Práticas**, São Paulo, Artmed, 2005.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livre de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treino físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Porto Alegre, v.10, n.4, p.308-313, jul./ago., 2004.

SGAMBATTI, M.S.; PIRERIN, A. M. G.; MION JR, D. A medida da pressão arterial no idoso. **Revista Brasileira de Hipertensão**, São Paulo, v.7, n.1, p.65-70, jan./mar., 2000.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, p.5-48, 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.13, n.1, p.6-66, 2010.

STICE, J.P.; EISERICH J.P.; KNOWLTON, A.A. Role of aging versus the loss of estrogens in the reduction in vascular function in female rats. **Endocrinology**, v.150, n.1, p.212-219, jan., 2009.

THOMAS, J.R.; NELSON, J.K. **Métodos de pesquisa em atividade física**. Porto Alegre, 3. Ed., Artmed Editora, 2002.

TRENCH, B.; SANTOS, C. G. Menopausa ou menopausas. **Saúde e Sociedade**, São Paulo, v.14, n.1, p.91-100, jan./abr., 2005.

VANCINI, R. L. *et al.* Radical livre, estresse oxidativo e exercício. **Centro de Estudos de Fisiologia do Exercício**, São Paulo, 2005.

VASCONCELOS, S. M. L. *et al.* Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.5, p.1323-1338, set./out., 2007.

WASSMANN, S. *et al.*, Endothelial Dysfunction and Oxidative Stress During Estrogen Deficiency in Spontaneously Hypertensive Rats. **Circulation**, Boston, v.103, n.1, p.435-441, Jan., 2001.

ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 5 de abril de 2012
CEP Nº: 0116/12

Ilmo(a) Sr(a)

Pesquisador(a): Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga
Disciplina/Departamento: Exercício físico e doenças crônicas II - CAMPUS BAIXADA SANTISTA
Pesquisadores associados: Alessandra Medeiros (orientadora)

Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

TÍTULO DO ESTUDO: EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBICO SOBRE A RESPOSTA VASOMOTORA DE RATAS OVARECTOMIZADAS :

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Experimental, categoria B - estudo crônico

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Não se aplica

OBJETIVO DO ESTUDO: O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbico (esteira rolante para ratos) sobre a resposta vasomotora (dilatação) em aorta de ratas ovariectomizadas, destacando-se o papel do NO e da acetilcolina nestas respostas.

RESUMO: Estudo com 40 ratos wistar, fêmeas, com 8 semanas. Anestésico: cloridrato de cetamina e de xilazina. Buprenorfina. Eutanásia: anestesia. As ratas serão anestesiadas e realizada ooforectomia bilateral. Após a cirurgia de ooforectomia os grupos de ratas treinadas serão submetidos a um protocolo de treinamento físico em esteira rolante com velocidade e carga progressiva durante 8 semanas (5 dias por semana) e intensidade de 50 a 60% da velocidade máxima no teste de esforço inicial. Será realizada avaliação da tolerância ao esforço físico progressivo utilizando protocolo com velocidade inicial de 5m/min, sendo intensificado a cada 5 minutos com velocidade de 5 m/min, até chegar o instante em que o animal não conseguir manter o padrão de corrida 124. Este teste será realizado no início, meio e fim do período de treinamento físico. Será realizado registro indireto da pressão arterial caudal e frequência cardíaca. Após um período de 48h da última sessão de treino, ou sedentarismo, os ratos serão sacrificados, a aorta torácica será imediatamente retirada. Dois anéis serão imediatamente utilizados para análise da reatividade vascular in vitro e 1 anel será congelado (-80oC) para posterior quantificação de nitrato e nitrito.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: O treinamento físico exerce um efeito benéfico sobre a função endotelial, sendo responsável pela elevação da expressão de enzimas antioxidantes, por promover uma maior produção e biodisponibilidade de NO para os vasos, por restaurar a vasodilatação endotélio dependente induzida pela acetilcolina e por reduzir a resistência vascular periférica, fatores que contribuem para a melhora da função endotelial. Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbico sobre a resposta vasomotora em aorta de ratas ovariectomizadas, destacando-se o papel do NO e da acetilcolina nestas respostas.

MATERIAL E MÉTODO: Estão descritos os procedimentos do estudo. Estudo aprovado pelo Núcleo de Bioética da Baixada Santista

TCLE: Não se aplica

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Sem financiamento externo - R\$ 1700,00

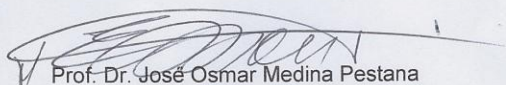
CRONOGRAMA DO ESTUDO: 24 meses

PRIMEIROS RELATÓRIOS PARCIAIS PREVISTOS PARA : 31/3/2013 e 26/3/2014

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo ANALISOU e APROVOU o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,


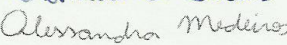
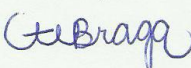

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

ANEXO B – Termo de Compromisso de Utilização de Dados - (TCUD)**Termo de Compromisso de Utilização de Dados - (TCUD)**

Eu Daniele Correia de Sales e Alessandra Medeiros, abaixo assinados, pesquisadores envolvidos no projeto de título: “Efeito do treinamento físico aeróbico sobre os níveis de espécies reativas de oxigênio em ratas ovariectomizadas” nos comprometeremos a manter a confidencialidade sobre os dados coletados pela pesquisadora Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga em pesquisa intitulada “Efeitos do treinamento físico aeróbico sobre a resposta vasomotora de ratas ovariectomizadas” registrada no Comitê de Ética sob o número **0116/12** nos arquivos (prontuários) de Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga, bem como a privacidade de seus conteúdos, como preconizam os Documentos Internacionais e a Resolução CNS nº 196/96 do Ministério da Saúde.

Informamos que os dados a serem acessados no prontuário/banco de dados dizem respeito a avaliação do efeito do treinamento físico sobre os níveis de espécie reativa de oxigênio na aorta de ratas ovariectomizadas. Ocorridos entre as datas de: Setembro de 2012 a Dezembro de 2013.

Santos, 01 de agosto de 2013

Nome	RG	Assinatura
DANIELE CORREIA DE SALES	47789247-4	
ALESSANDRA MEDEIROS	23868270-5	
VIVIANE AP. V. N. BRAGA	MG-14.475.532	

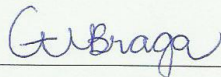
OBS: TODOS OS PESQUISADORES QUE TERÃO ACESSO AOS DOCUMENTOS DO ARQUIVO DEVERÃO TER O SEU NOME E RG. INFORMADO E TAMBÉM DEVERÃO ASSINAR ESTE TERMO. SERÁ VEDADO O ACESSO AOS DOCUMENTOS A PESSOAS CUJO NOME E ASSINATURA NÃO CONSTAREM NESTE DOCUMENTO.

Anexo C - Carta de autorização para uso do banco de dados

Carta de autorização para uso do banco de dados

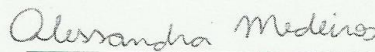
Eu, Viviane Aparecida Vieira Nogueira Braga, responsável principal pelo projeto de Mestrado, o qual pertence ao curso de Educação Física da Universidade Federal de São Paulo, autorizo a utilização dos dados do trabalho de pesquisa sob o título “Efeito do treinamento físico aeróbico sobre os níveis de espécie reativa de oxigênio em ratas ovariectomizadas” com o objetivo de avaliar o efeito do treinamento físico sobre a resposta vasomotora de ratas ovariectomizadas.

Esta pesquisa está sendo orientada pela Professora Alessandra Medeiros



Assinatura do Pesquisador Principal

RG : MG 14.475.532



Assinatura do Professor da Pesquisa

RG 23868270-5

UNIFESP

2013